

УДК 534:544

Препаративная градиентная хроматография*

А. Зайдель-Моргенштерн

АНДРЕАС ЗАЙДЕЛЬ-МОРГЕНШТЕРН (*Andreas Seidel-Morgenstern*) — профессор Химико-технологического института Магдебургского университета им. Отто фон Герике, директор Института динамики сложных технических систем им. Макса Планка. Область научных интересов: математическое моделирование хроматографических процессов, индустриальные методы разделения, теория хроматографии.

Institut für Verfahrenstechnik, Otto-von-Guericke-Universität, Universitätsplatz 2, D-39106 Magdeburg, Germany.

Max-Planck-Institut für Dynamik komplexer technischer Systeme, Sandtorstr. 1, D-39106 Magdeburg, Germany, E-mail anseidel@vst.uni-magdeburg.de

Введение

Препаративная хроматография привлекает особое внимание как метод выделения и очистки ценных продуктов в фармацевтической промышленности и биотехнологии, а также в других отраслях промышленности [1].

В отличие от аналитических приложений хроматографии, когда работают с пробами небольших объемов, на препаративном уровне имеют дело с большими объемами и/или высокими концентрациями вещества в пробе. В этом случае равновесие распределения вещества между фазами не является линейным и, кроме того, результаты разделения сильно зависят от конкуренции между сорбируемыми веществами. Наиболее существенная особенность разделения в условиях перегрузки колонки — это сильная зависимость времени удерживания сорбата от количества введенной пробы.

Поскольку в промышленности предпочтительно используются простые и надежные условия разделения, хроматографический процесс проводят обычно в изократическом режиме, когда в ходе разделения все параметры сохраняются постоянными, за исключением периодических изменений в подвижной фазе, вызванных введением пробы. При изократическом элюировании процесс разделения базируется на нелинейных, но постоянных термодинамических функциях.

Однако часто хроматографирование проводят в условиях изменения некоторых параметров, для того чтобы, например, ускорить перемещение медленнодвигающихся по колонке соединений [2, 3]. Так, градиентное элюирование позволяет чаще вводить пробу и тем самым повысить производительность хроматографической системы. Другой положительный эффект градиентного элюирования в сравнении с изократическим — это потенциальное увеличение концентрации элюируемого продукта [4, 5].

Для целей препаративного разделения привлекательным является также замена периодического режима элюирования на непрерывный. Особенно успешно применяется метод симулированного движения стационарной фазы, предложенный более 40 лет назад Броугтоном и Герхольдом [6]. В этом методе реализуется противоток подвижной и стационарной фаз. Первоначально использованный в нефтехимической и сахарной промышленности [1] метод симулированного движения стационарной фазы в последнее десятилетие нашел применение в фармацевтической промышленности, в частности для разделения энантиомеров [7]. Характерная черта обычного четырехзонного процесса разделения по этому методу заключается в том, что он проводится в изократических условиях. Относительно недавно предложены варианты улучшения метода путем включения различных градиентов [8–12].

* Перевод с английского докт. хим. наук А.А. Курганова.

Аналитическая и препаративная хроматография

Наиболее существенные различия аналитической и препаративной хроматографии рассмотрим, используя простую модель, описывающую основные особенности продвижения хроматографической зоны по колонке (более полно различия между этими вариантами обсуждаются в [13, 14]). Неподвижный слой, состоящий из хорошо упакованных мелких частиц сорбента, может быть адекватно охарактеризован в рамках равновесной дисперсионной модели. В этой модели все эффекты, приводящие к уширению хроматографической зоны, отражает кажущийся коэффициент диффузии D_a , который близко коррелирует с числом теоретических тарелок.

Соответствующее уравнение материального баланса для i -го компонента смеси, состоящей из k соединений, дается следующим выражением:

$$\frac{\partial c^i}{\partial t} + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \frac{\partial q^i(c^1, c^2, \dots, c^k)}{\partial t} + u \frac{\partial c^i}{\partial z} = D_a^i \frac{\partial^2 c^i}{\partial z^2} \quad \text{для } i = 1, \dots, k \quad (1)$$

$$D_a^i = \frac{uL}{2N^i} \quad (2)$$

где c^i — концентрация i -го компонента; t — время; z — продольная координата; ε — пористость колонки; u — линейная скорость подвижной фазы; L — длина колонки; функция q^i описывает соотношение между концентрацией компонента i в стационарной фазе и концентрацией всех компонентов смеси c^1, c^2, \dots, c^k в подвижной фазе.

Для того чтобы использовать указанную модель для описания процесса разделения, необходимо знать соотношение (обычно нелинейное)

$q^i = q^i(c^1, c^2, \dots, c^k)$. Необходимо также знание граничных и начальных условий конкретной системы. В элюентной хроматографии обычно предполагается, что перед вводом пробы колонка полностью регенерирована, а проба вводится в колонку в форме прямоугольного импульса.

Система масс-балансовых уравнений (1) может быть решена численно методом конечных разностей после соответствующей дискретизации (см. например [13, 15]). Для описания равновесия между подвижной и стационарной фазами широко используется ленгмюровская изотерма адсорбции из многокомпонентной смеси благодаря ее простоте и соответствию экспериментальным данным [13, 16]:

$$q^i = \frac{a^i c^i}{1 + \sum_{j=1}^k b^j c^j} \quad i = 1, \dots, k \quad (3)$$

где параметры a^i — константы Генри; параметры b^j характеризуют энергию сорбции.

Для случая очень малых концентраций вещества в пробе уравнение (3) превращается в линейную изотерму адсорбции Генри:

$$q^i = a^i c^i \quad i = 1, \dots, k \quad (4)$$

В аналитической (линейной) хроматографии вместо константы Генри a^i часто используют фактор емкости k^i , который определяется как

$$k^i = \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} a^i \quad i = 1, \dots, k \quad (5)$$

Решение уравнений (1)–(3) позволяет объяснить различие между линейными и нелинейными хроматографическими системами. Рис. 1а демонстрирует влияние числа теоретических тарелок N (или, что то же самое, кажущегося

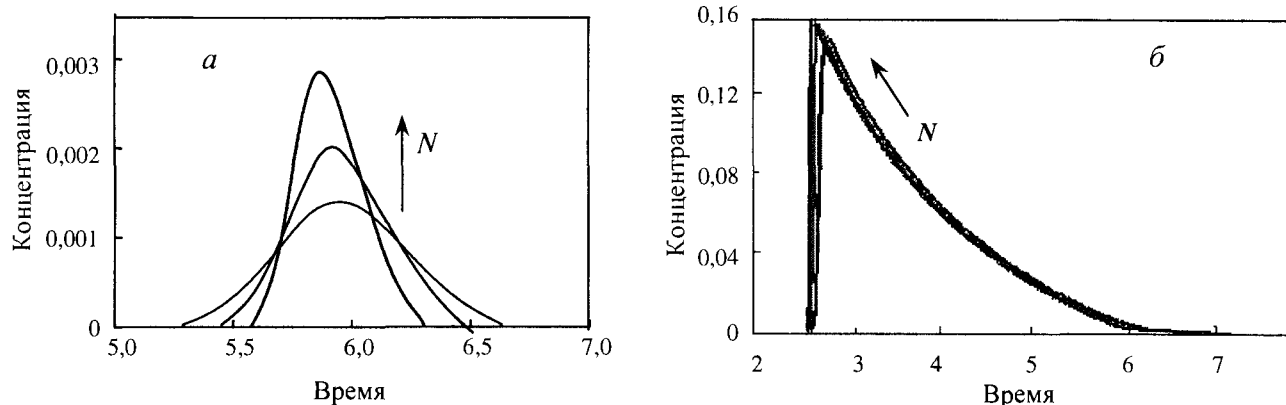


Рис. 1. Зависимость формы пика от числа теоретических тарелок в аналитической (а) и препаративной (б) хроматографии.

Расчет по уравнениям (1)–(5), параметры (в относительных единицах): $\varepsilon = 0,5$, $u = 20$, $L = 20$, $a = 5$, $k^i = 5$. Ввод пробы: а — $c(t, z = 0) = 1$ для $0 < t < 0,001$; б — $c(t, z = 0) = 200$ для $0 < t < 0,001$. Число теоретических тарелок N : 500, 1000, 2000

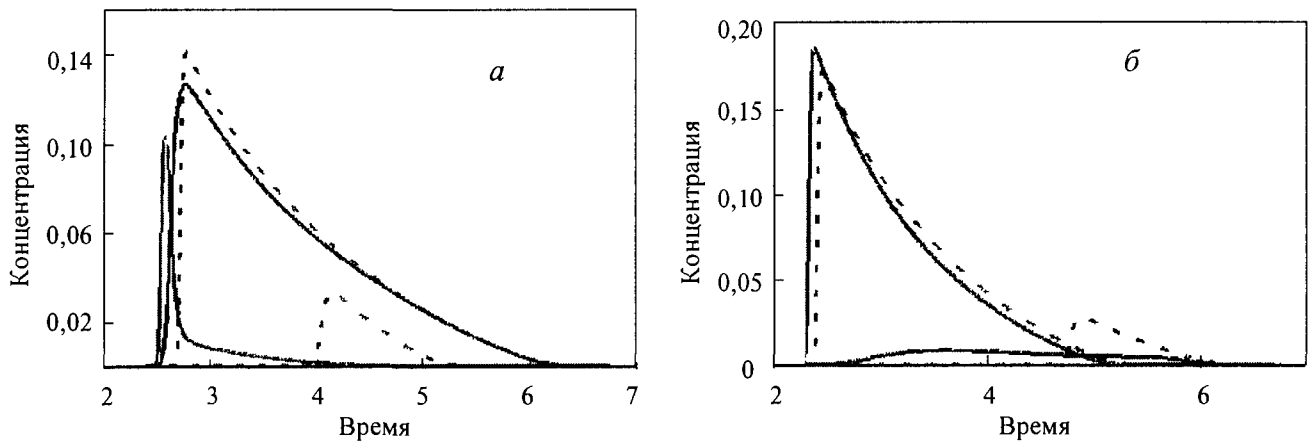


Рис. 2. Формы пиков вещества при введении одного и того же количества пробы индивидуально (сплошная линия) и в бинарной смеси (пунктирная линия), иллюстрирующие вытеснительный эффект (а) и эффект «размазывания» (б).

Расчет по уравнениям (1)—(5), параметры: $\epsilon = 0,5$, $u = 20$, $L = 20$, $a_1 = 4$, $b_1 = 4$, $a_2 = 5$, $b_2 = 5$, $N = 1000$. Ввод пробы: а — $c_1(t, z = 0) = 20$, $c_2(t, z = 0) = 180$ для $0 < t < 0,001$; б — $c_1(t, z = 0) = 180$, $c_2(t, z = 0) = 20$

коэффициента диффузии D_n) на уширение полосы в аналитической хроматографии. В условиях препаративной (нелинейной) хроматографии влияние числа тарелок или эффективности колонки теряет свое значение (рис. 1 б), и форму полосы и время удерживания определяет, главным образом, термодинамика процесса.

Как было указано выше, в нелинейной хроматографии сильное влияние оказывает конкуренция между сорбируемыми компонентами пробы. На рис. 2 приведены смоделированные профили элюирования одинакового количества компонента, введенного на колонку индивидуально и в смеси с другим соединением. Два наблюдаемых эффекта обозначаются обычно как эффект вытеснения (рис. 2а) и эффект «размазывания» (рис. 2б).

Другие результаты систематических исследований нелинейной хроматографии с применением равновесной дисперсионной модели изложены в [13, 17].

Рассмотренные выше особенности процесса препаративной хроматографии показывают, что знание нелинейной и конкурентной изотерм адсорбции является основной предпосылкой для количественного предсказания профиля элюирования компонента в условиях перегрузки препаративной хроматографической колонки.

Градиентная хроматография

Наряду с техникой изократического элюирования, когда все параметры хроматографического процесса сохраняются постоянными, представляется заманчивым проводить разделение при

варьировании рабочих параметров. В частности, на скорость перемещения концентрационного фронта влияют температура, давление, скорость потока и состав подвижной фазы. Последний параметр включает также часто реализуемое в жидкостной хроматографии изменение рН и ионной силы элюента. С помощью градиентных насосных систем состав подвижной фазы можно легко и воспроизводимо менять в процессе разделения.

Типичный результат применения градиента состава элюента показан на рис. 3. Обычно вытеснительная сила элюента повышается в про-

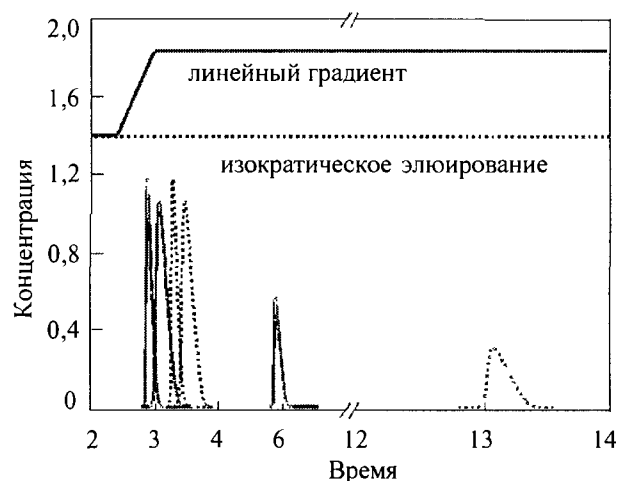


Рис. 3. Влияние линейного градиента состава элюента на удерживание компонентов смеси, состоящей из трех соединений

цессе хроматографирования, что приводит к сокращению времени удерживания. Для улучшения разрешения можно варьировать профиль градиента состава элюента и, соответственно, изменять скорость перемещения компонентов смеси. При моделировании разделения, представленного на рис. 3, был использован линейный градиент, хотя в принципе возможно применение и нелинейных градиентов.

Чтобы иметь возможность количественного описания хроматографического разделения при использовании градиента состава подвижной фазы, необходимо оценить влияние состава элюента на функции, описывающие равновесие в колонке. Этот вопрос для хроматографии с линейным градиентом изучен достаточно хорошо [2, 3, 18–21]. Предложено несколько моделей для описания влияния концентрации модификатора в элюенте c^{mod} на фактор удерживания k' с использованием функции следующих типов [22]:

$$\lg k' = \alpha - \beta \lg c^{\text{mod}} \quad (6)$$

$$\lg k' = \alpha - \beta c^{\text{mod}} \quad (7)$$

$$\lg k' = \alpha - \lg c^{\text{mod}} + \gamma c^{\text{mod}} \quad (8)$$

$$\lg k' = \alpha_0 + \alpha_1 c^{\text{mod}} + \alpha_2 (c^{\text{mod}})^2 + \dots \quad (9)$$

$$k' = \alpha_0 + \alpha_1 c^{\text{mod}} + \alpha_2 (c^{\text{mod}})^2 + \dots \quad (10)$$

Еще более сложные модели, включающие уравнения линейной и общей теории энергии сольватации, предложены для хроматографического процесса на обращенных фазах [21].

Ситуация становится намного сложнее, если концентрация модификатора влияет на нелинейную изотерму адсорбции. В настоящее время не существует какой-либо общей теории, способной предложить соответствующие корреляции с удовлетворительной точностью. Поэтому приходится прибегать к систематическим экспериментальным измерениям при разных концентрациях модификатора, чтобы найти уравнение изотермы адсорбции при градиентном элюировании. В таких экспериментах часто устанавливают влияние концентрации модификатора на параметры изотермы, найденной для изократических условий. Для ленгмюровской изотермы, приведенной выше, этот подход дает следующее выражение:

$$q' = \frac{a' (c^{\text{mod}}) c^i}{1 + \sum_{j=1}^k b^j (c^{\text{mod}}) c^j} \quad (11)$$

Считая уравнение (6) применимым для a' и b' , количественно влияние концентрации c^{mod} мо-

жет быть представлено через эмпирические параметры a'_1 , a'_2 , b'_1 и b'_2 :

$$a' (c^{\text{mod}}) = (a'_1 c^{\text{mod}})^{-a'_2} \quad \text{и} \quad b' (c^{\text{mod}}) = (b'_1 c^{\text{mod}})^{-b'_2} \quad (12)$$

Термодинамически более обоснованные модели градиентной хроматографии базируются на учете всех компонентов системы, включая все составляющие элюента. В эти модели вводятся термодинамические коэффициенты активности, показывающие отклонение от идеальности подвижной и/или неподвижной фаз. Многообещающим в этом направлении выглядит использование реальной теории адсорбции [23]. К сожалению, решение реальных аналитических задач осложняется тем, что коэффициенты активности, как правило, неизвестны и для их определения требуются трудоемкие систематические экспериментальные измерения. Количественное описание линейной и конкурентной изотерм адсорбции и/или профилей элюирования для различных хроматографических систем в препаративной хроматографии даны в работах [24–32]

Периодическая и непрерывная хроматография

В аналитической практике использование метода с периодическим введением проб — периодическая хроматография — является рутинной процедурой. При этом, чтобы увеличить производительность хроматографической колонки, идут по пути снижения времени разделения. С этой целью при последовательном введении проб каждый очередной образец вводят в колонку, не дожидаясь, пока из колонки выйдут все компоненты предыдущей пробы. Тем не менее стационарная фаза при таком режиме эксплуатируется не эффективно. Сейчас в практике препаративных разделений отчетливо наблюдается тенденция к использованию хроматографических режимов, допускающих непрерывный ввод пробы.

Среди имеющихся различных вариантов непрерывной хроматографии особенно интересен метод симулирования движения стационарной фазы. Принципы этого метода поясним на примере гипотетического процесса с реально движущейся стационарной фазой. Основная идея этого процесса состоит в организации в колонке противотока твердого носителя и жидкой фазы (рис. 4). Вводимая проба F, содержащая, например два компонента А и В, подается в среднюю часть колонны. Предполагая, что скорость движения обеих фаз отрегулирована и что процесс разделения происходит в секциях II и III колонны, можно подобрать такой режим разделения, при котором менее удерживаемый компонент А будет непрерывно отбираться из восходящего потока элюента в точке R колонны, а более

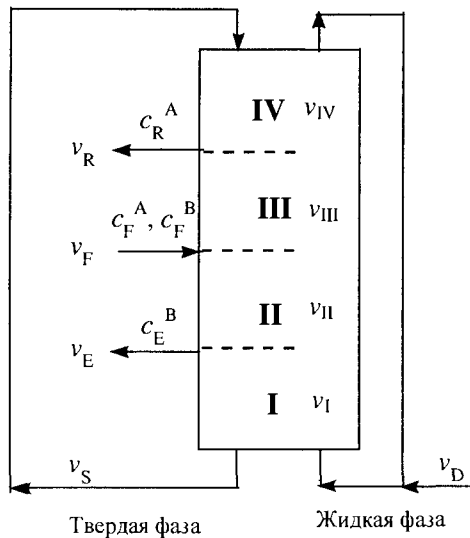


Рис. 4. Принципиальная схема четырехзонального процесса с реально движущейся стационарной фазой

сильно удерживаемый компонент В — из нисходящего потока элюента в точке Е колонны. Для наиболее экономного использования рециркулирующих фаз необходимо полное удаление компонентов А и В из зон I и IV. Это требует дополнительной подачи десорбирующего элюента D.

Предложено несколько моделей, описывающих этот противоточный процесс [1, 33—36]. В самой простой модели процесс рассматривается как состоящий из нескольких равновесных ступеней (см., например, [37]). Уравнение баланса (по массе) для компонента j на одной равновесной ступени (которая является частью системы, представленной на рис. 4) записывается так:

$$v_S q'_{j-1}(\bar{c}'_{j-1}) + v c'_{j+1} - v c'_j - v_S q'_j(\bar{c}'_j) = v_{\text{ext}} c^{\text{ext}} \quad (13)$$

$$v_{\text{ext}} c^{\text{ext}} = \begin{cases} -v_F c'_F & \text{для } j = F \\ -v_D c'_D & \text{для } j = D \\ v_R c'_R & \text{для } j = R \\ v_E c'_E & \text{для } j = E \\ 0 & \text{для остальных } j \end{cases}$$

где v — скорость потока жидкой фазы.

Решение больших систем связанных уравнений, к которым принадлежит уравнение (13) ($j = 1, N_{\text{общ}}$), требует обычно численных методов.

Важное условие успешного применения таких противоточных процессов — это правильный выбор скоростей. Здесь присутствует четыре скорости четырех компонентов в подвижной фазе: v_F, v_D, v_E, v_R , которые связаны через массовые балансы с внутренними скоростями $v_I, v_{II}, v_{III}, v_{IV}$ и скоростью перемещения твердого носителя v_S . Соответствующие скорости могут быть определены с помощью аппарата теории равновесий,

которая пренебрегает всеми диффузионными процессами и предполагает гипотетическую ситуацию с бесконечным числом равновесных ступеней. Элегантный анализ такой системы с использованием безразмерных скоростей

$$m_z = v_z/v_S \quad (14)$$

можно найти в [34—36].

Для обеспечения полного хроматографического разделения должны соблюдаться определенные ограничения для безразмерных скоростей. В наиболее простом случае линейной изотермы адсорбции эти ограничения связаны с константами Генри для компонентов А и В:

$$\begin{aligned} m_{IV} &< a^A \\ a^A &< m_{II} < m_{III} < a^B \\ a^B &< m_j \end{aligned} \quad (15)$$

Очевидный недостаток описанной гипотетической системы с реально движущейся стационарной фазой состоит в том, что трудно организовать непрерывный поток стационарной фазы. На практике вместо этого обычно используется серия соединенных колонн с неподвижной стационарной фазой. Такой процесс, когда движение стационарной фазы только симулируется, схематически изображен на рис. 5. Путем дискретного перемещения точек ввода пробы и десорбирующего элюента и точек вывода разделенных продуктов удается симулировать противоточный хроматографический процесс с реально движущейся стационарной фазой. Сегодня метод симулированного движения стационарной фазы широко известен как мощное средство, позволяющее разделить вводимую пробу на две фракции. До сих пор этот процесс был реализован в изократиче-

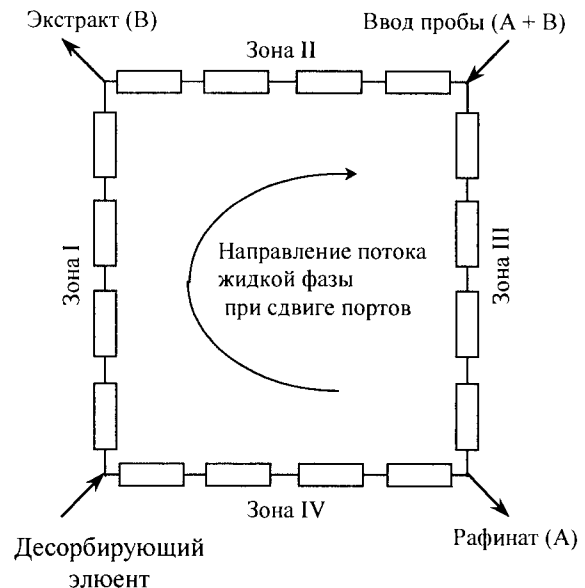


Рис. 5. Принципиальная схема четырехзонального процесса с симулированием движения стационарной фазы

ском варианте. И хотя этот вариант остается доминирующим, в последние годы ведутся исследовательские работы по повышению эффективности метода либо путем асинхронного перемещения точек ввода—вывода [38], либо путем изменения параметров системы в процессе переключения точек ввода—вывода [39, 40].

Двухступенчатая градиентная хроматография с моделированием движения стационарной фазы

В настоящее время проводятся интенсивные работы по использованию потенциала градиентного элюирования в методе с моделированием движения стационарной фазы. Еще ранее изученный процесс разделения с градиентом давления в системе с моделированным движением стационарной фазы показал, что ступенчатое периодическое изменение давления в четырех зонах позволяет оптимизировать локальную вытеснительную силу элюента [8—10, 41].

Теоретически изучен и экспериментально реализован процесс с использованием двух различных по составу подвижных фаз для ввода пробы и для вытеснения разделенных компонентов [11, 12, 42—44]. Чтобы создать приемлемый в этой системе концентрационный градиент, в десорбирующем элюенте поддерживается более высокая концентрация модификатора, чем в элюенте для подачи пробы, т.е. $c_D^{\text{mod}} > c_F^{\text{mod}}$ (см. рис. 4). В результате две регенерирующие зоны колонны (I и IV на рис. 4) работают более эффективно, и требуется меньшее количество модификатора. Это в свою очередь позволяет повысить концентрацию продуктов в выходящих потоках. В этой связи следует затронуть вопрос о том, что концентрации модификатора в двух выходящих из колонны потоках, c_E^{mod} и c_R^{mod} , будут отличаться друг от друга и от концентрации в элюенте, подающем пробу. Дизайн и оптимизация такого двухступенчатого градиентного процесса доста-

точно сложна и здесь не рассматривается. Детальное описание можно найти в [9, 12, 42, 43].

ЭКСПЕРИМЕНТ

Ниже приведены экспериментальные результаты, раскрывающие некоторые аспекты препаративной градиентной хроматографии в целом и ее варианта — двухступенчатого градиентного элюирования с моделированием движения стационарной фазы. Полное описание этих экспериментов дано в [12, 31, 37, 42].

Методическая часть. Исследовался процесс разделения бинарной смеси циклопентанона (C5) и циклогептанона (C7) в нормально-фазном режиме хроматографирования. Для разделения использовали две хроматографические системы: комплект из восьми колонок ($L = 100$ мм, $d = 6$ мм, размер частиц сорбента $d_p = 20$ мкм) (серия 1) и комплект из четырех колонок ($L = 250$ мм, $d = 20$ мм, $d_p = 12$ мкм) (серия 2). Сорбент — силикагель УМС, $d_{\text{пор}} = 120 \text{ \AA}$ (Шермбек, Германия). Элюент — смесь *n*-гексана и этилацетата. Этилацетат служил как модификатор элюента для варьирования удерживания компонентов смеси. Процесс разделения проводили при комнатной температуре.

Использованное оборудование: хроматограф НР1100 фирмы «Агилент» (Германия), а также система для хроматографирования с моделированием движения стационарной фазы фирмы «Прохром/Новасеп» (Франция) и многофункциональный кран (фирма «Кнауер», Германия) для соединения колонок, насосов или детекторов.

В предварительных экспериментах традиционным методом были определены пористость и число теоретических тарелок (эффективность) всех колонок. Усредненные значения этих параметров: $\epsilon = 0,79$, $N = 850$.

Изотермы адсорбции измеряли методом, описанным в [45]. На рис. 6 приведены изотермы ад-

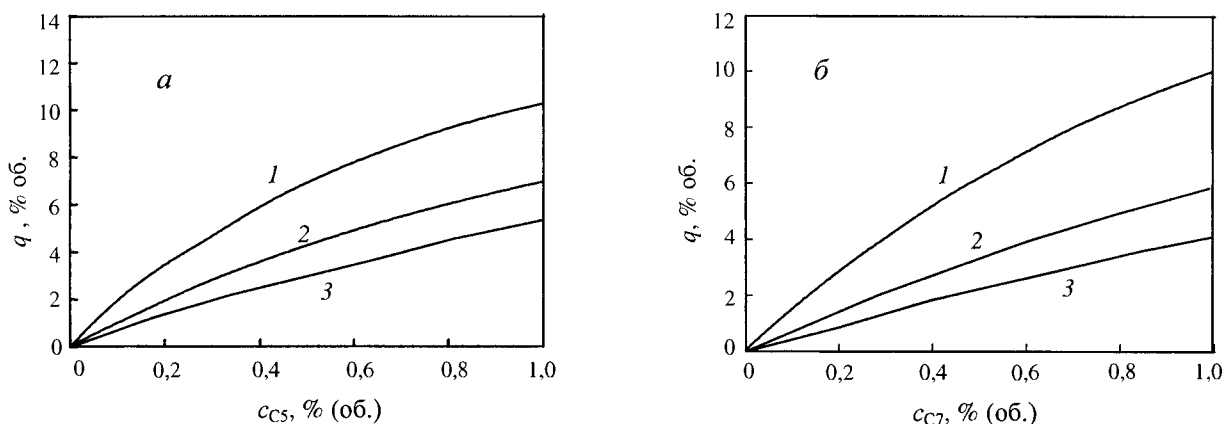


Рис. 6. Изотермы адсорбции циклопентанона (а) и циклогептанона (б) при 20 °С при разных концентрациях модификатора (этилацетат) в элюенте:

1 — 5% (об.); 2 — 10% (об.); 3 — 15% (об.)

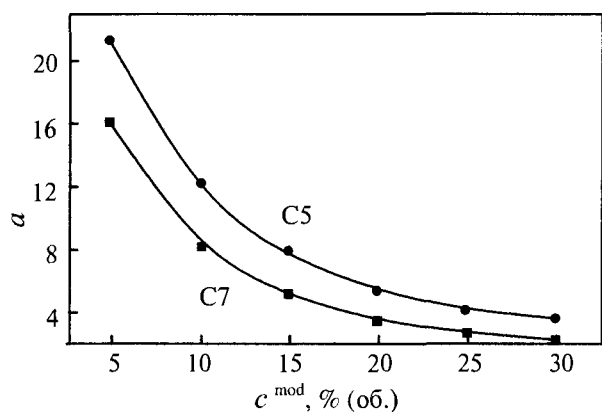


Рис. 7. Зависимость константы Генри для циклопентанона и циклогептанона от концентрации модификатора в элюенте

сорбции циклопентанона и циклогептанона при трех различных концентрациях модификатора. Полученные данные были проанализированы с использованием уравнений (11) и (12). Параметры уравнения (12) находили путем аппроксимации экспериментальных точек теоретическими моделями (табл. 1). Рис. 7 показывает влияние концентрации этилацетата на константу Генри. Компонент C5 сорбируется лучше, чем C7, но присутствие модификатора значительно уменьшает сорбируемость обоих компонентов.

Таблица 1

Параметры изотермы адсорбции (уравнение 12) для циклопентанона (C5) и циклогептанона (C7)

Параметры	C5	C7
a_1	0,0090	0,0161
a_2	0,985	1,102
b_1	0,1903	0,316
b_2	0,951	1,126

Непрерывное градиентное разделение. Влияние линейного градиента концентрации модификатора в элюенте на результаты разделения смеси циклических кетонов демонстрирует рис. 8. Во всех экспериментах одно и то же «большое» количество пробы (смесь C5 и C7 1:1) вводилось на одну из колонок серии 1. С целью сравнения сначала были проанализированы два изократических процесса разделения ($c^{\text{mod}} = 5$ и 15% об.). В соответствии с ходом изотермы адсорбции при увеличении концентрации модификатора время удерживания уменьшается. Затем было проведено разделение при трех линейных градиентах состава элюента различной крутизны (концентрация модификатора в интервале 5–15% об.),

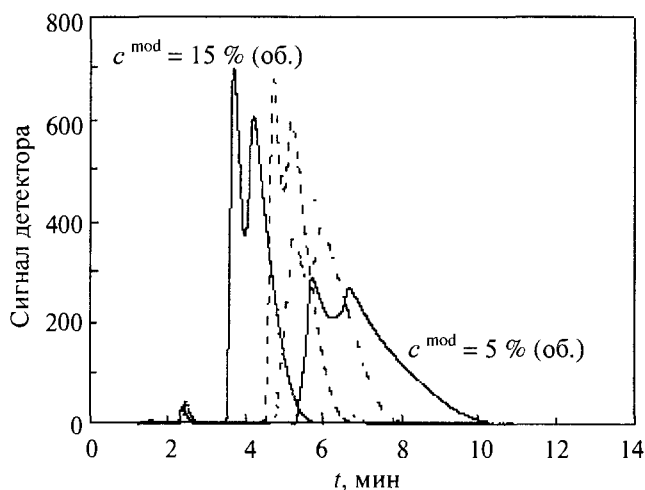


Рис. 8. Эффект влияния использования градиента концентрации модификатора на разделение смеси циклических кетонов C5 и C7.

Сплошная линия: изократическое элюирование при концентрации модификатора $c^{\text{mod}} = 5$ и 15% (об.). Прерывистые линии: градиентное элюирование, линейный градиент концентрации модификатора создается сразу после введения пробы от $c^{\text{mod}} = 5\%$ к 15% (об.) в течение 1 мин (пунктирная линия), 2 мин (точечная линия) и 5 мин (штрих-пунктирная линия)

причем градиенты создавали сразу же после ввода пробы. Очевидно, чем круче градиент, тем более ярко выражен эффект ускорения элюирования и тем более значительны изменения формы пика.

Для увеличения производительности препаративной хроматографии привлекательно использование многоколоночного варианта в сочетании с градиентным элюированием. Соответствующий эксперимент проводили следующим образом. Четыре колонки серии 2 соединяли параллельно посредством многофункционального крана. Путем поворота крана (и, следовательно, колонок) через определенные промежутки времени создавали четырехступенчатый градиент. В случае соединения входных штуцеров крана с четырьмя насосами концентрация модификатора и скорость движения элюента могли изменяться на каждой ступени. Через четыре шага каждая из колонок возвращалась в свое первоначальное состояние и цикл разделения заканчивался.

Сопоставление экспериментальных и смоделированных профилей элюирования на основании изотерм адсорбции с использованием уравнений (11) и (12) представлено на рис. 9. Более детальное рассмотрение этой задачи можно найти в [46].

Следует подчеркнуть, что оптимизация формы градиента для нелинейной препаративной хроматографии представляет очень сложную задачу.

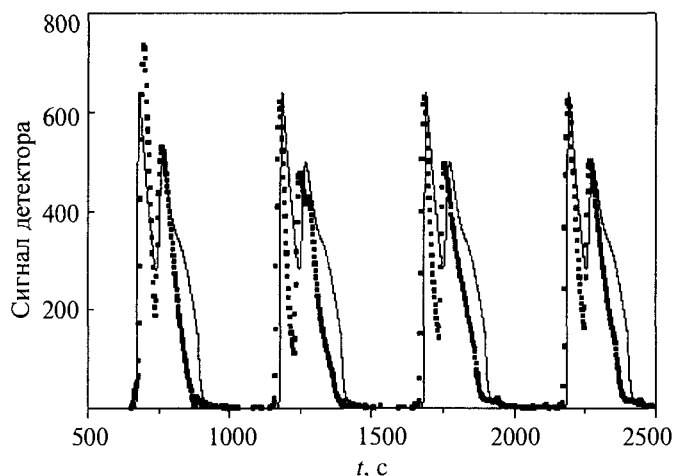


Рис. 9. Экспериментальные (точки) и рассчитанные (сплошная линия) профили элюирования для четырех пиков четырехступенчатого градиента состава элюента.

Концентрация модификатора для каждой ступени: 5, 10, 15 и 25% (об.). Продолжительность ступени 2,1 мин. Скорость потока на последней ступени вдвое выше, чем на первых трех ступенях

Результаты моделирования сильно зависят от объективности используемых функций. Важные аспекты этой проблемы обсуждаются в [4, 5, 22, 26, 27, 29].

Непрерывное разделение при моделировании движения стационарной фазы с двухступенчатым градиентом. Разделение проводили на восьми колонках (серия 1), установленных в систему Прохром/Новасеп, а также на четырех колонках (серия 2), соединенных посредством многофункционального крана. Для экспериментов с восьмью колонками были использованы два элюента: с 15 и 35% (об.) модификатора. Пробу (смесь С5:С7 1:1) вводили в хроматографическую систему в «слабом» элюенте ($c_F^{mod} = 15\%$), а «сильный» элюент ($c_D^{mod} = 35\%$) подавали в зону десорбции.

Рис. 10, показывающий результаты разделения на системе из восьми колонок, демонстрирует эффект варьирования безразмерной скорости потока m_{II} в зоне II, которая меняется за счет изменения скорости потока твердой фазы (т.е. времени переключения колонок). Как видно из рисунка, для значений $m_{II} \approx 2,5$ удается получить экстракт и рафинат высокой степени чистоты. В процессе с изократическим режимом и с моделированием движения стационарной фазы повышение значений m_{II} выше определенного уровня ведет к снижению чистоты рафината, а снижение ниже определенного уровня вызывает уменьшение чистоты экстракта.

Для сравнения на рис. 10 представлены также результаты двух изократических процессов разделения с $m_{II} = 2,47$ при $c_F^{mod} = c_D^{mod} = 15\%$ и $c_F^{mod} = c_D^{mod} = 35\%$ (об.). Остальные параметры

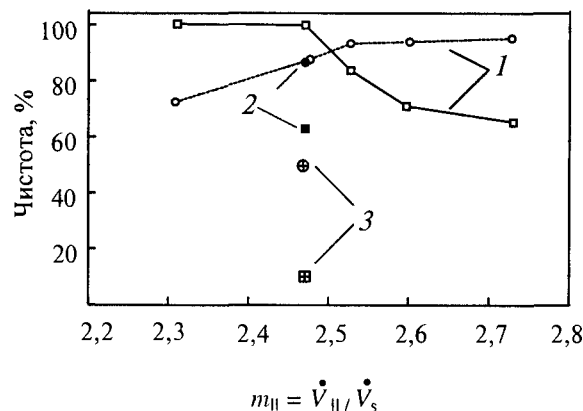


Рис. 10. Чистота экстракта и рафината как функция безразмерной скорости потока в зоне II при разделении смеси циклических кетонов С5 и С7 в изократическом и двухступенчатом градиентном режиме с смоделированным движением стационарной фазы.

Последовательно соединенные восемь колонок (см. также схему на рис. 4). Кружки: точка вывода экстракта С5, квадраты: точка вывода рафината С7. Скорость подвижной фазы (мл/мин): $v_F = 0,88$, $v_D = 4,9$, $v_E = 1,62$, $v_R = 1,59$. Скорость движения сорбента (мл/мин): $v_S = 0,4$; 0,393; 0,39; 0,387; 0,381.

1 — двухступенчатый градиент, $c_F^{mod} = 15\%$ (об.), $c_D^{mod} = 35\%$ (об.); 2, 3 — изократическое разделение, $v_S = 0,393$ мл/мин, $m_{II} = 2,47$, ($c_F^{mod} = c_D^{mod} = 35\%$ (2) и $c_F^{mod} = c_D^{mod} = 15\%$ (3))

разделения были такими же, как и в случае процесса с двухступенчатым градиентом. Разным содержанием модификатора соответствуют резко различающиеся степени чистоты продуктов. В то время как для постоянной концентрации модификатора 35% еще возможна правильная ориентация разделенных продуктов относительно соответствующих портов вывода, при содержании модификатора 15% «чужой» компонент появляется на порте вывода рафината. Эта тенденция полностью совпадает с предсказаниями на основе моделирования.

В экспериментах с четырьмя колонками был изучен наиболее простой и поэтому наиболее привлекательный вариант разделения с градиентом содержания модификатора (от 0% до 100% (об.)) в двух потоках, поступающих в систему [12]. Используемые параметры разделения и полученные результаты суммированы в табл. 2. Высокая чистота разделенных продуктов и их высокая концентрация подтверждают прогнозы, сделанные на базе предварительной симуляции процесса с использованием уравнений (1), (11) и (12). Для сравнения в табл. 2 представлены также результаты изократического процесса при концентрации модификатора 15% (об.). Наиболее заметное различие заключается в значительном

Результаты двухступенчатого градиентного разделения смеси циклических кетонов C5 и C7 с моделированием движения стационарной фазы.

$c_F(C5) = c_F(C7) = 0,3\%$ (об), $c_D^{mod} = 100\%$, $c_F^{mod} = 0\%$ Скорость подвижной фазы (мл/мин) $v_F = 30,1$, $v_D = 5,7$, $v_R = 16,2$, $v_E = 19,6$, время сдвига 2 мин

Для сравнения приведены результаты изократического разделения ($c^{mod} = 15\%$)

Характеристики	Градиентное элюирование		Изократическое элюирование
	симулировано	эксперимент	симулировано
Обогащение E			
кетонем C7, E_R	1,7	1,7	0,29
кетонем C5, E_E	1,5	1,4	0,14
Чистота продукта, % (об)			
поток R	99,8	99,4	99,9
поток E	94,3	95,3	98,8
Производительность, мл/(мл · мин)			
поток R	0,114		0,055
поток E	0,144		0,056
Расход десорбента*	63		159
Концентрация модификатора**, % (об)			
поток R	12	12	15
поток E	19	21	15

* Нормализованный ** Усредненная

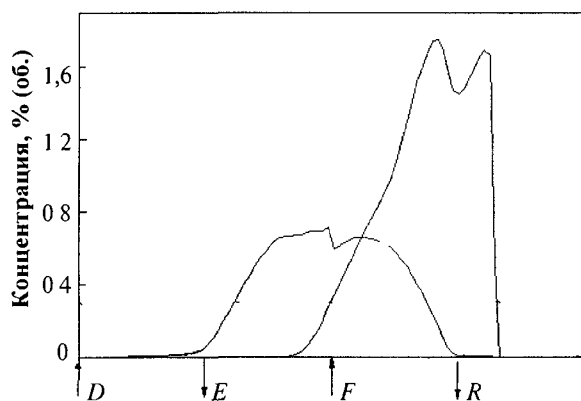


Рис. 11. Внутренний профиль элюирования циклических кетонов C5 и C7 в конце цикла для процесса с двухступенчатым градиентом.

Последовательно соединенные четыре колонки, направление движения подвижной фазы слева направо. Концентрация пробы 0,3% (об) C5, 0,3% (об) C7. Градиент $c_D^{mod} = 100\%$ (об), $c_F^{mod} = 0\%$ (об). Скорости потоков (мл/мин) $v_F = 30,1$, $v_D = 5,7$, $v_R = 16,2$, $v_E = 19,6$. Время переключения 2 мин. Остальные детали эксперимента см [12]

снижении потребления элюента и в повышении концентрации продуктов в выходящих потоках при использовании двухступенчатого градиента

Рис 11 показывает внутренний концентрационный профиль в момент перед переключением портов в правую сторону (эксперимент по разделению смеси циклических кетонов с двухступенчатым градиентом). Рисунок отчетливо демонстрирует хорошее разделение и высокие концентрационные уровни продуктов, по сравнению с концентрациями кетонов в пробе (показаны пунктирной линией)

Заключение

Градиент растворителей является мощным средством повышения производительности препаративной жидкостной хроматографии. Знание влияния изменения состава растворителя на ход изотермы адсорбции разделяемых компонентов является ключом к количественному пониманию и выбору соответствующего хроматографического процесса. Здесь требуются еще значительные исследования для адекватного понимания и

предсказания таких равновесий В настоящее время уже существуют различные модели градиентного элюирования в препаративной хроматографии

Хроматографический процесс с моделированием стационарной фазы может быть значительно улучшен за счет использования градиента Простая реализация такой системы может быть достигнута путем использования двухступенчатого градиента

* * *

Большой вклад в представленное исследование внесли д-р Дорота Антос (Технологический университет, Ржешов, Польша), Людмила Георгиева и Дарья Бельчева (Университет им Отто фон Герике, Магдебург, Германия) Автор благодарит фирмы «Шеринг АГ» (Берлин, Германия), «Кнауер» (Берлин, Германия) и Фонд химической промышленности Германии за финансовую поддержку работы

ЛИТЕРАТУРА

- Preparative and production scale chromatography Eds G Ganetsos, P E Barker New York Marcel Dekker, 1993
- Snyder L R Principles of adsorption chromatography New York Marcel Dekker, 1968
- Jandera P, Churacek J Gradient elution in column liquid chromatography Amsterdam Elsevier, 1985
- Felinger A, Guiochon G Biotechnol Prog, 1996, v 12, p 638
- Felinger A, Guiochon G J Chromatogr A, 1998, v 12, p 638
- Патент США № 2 985 589, 1961
- Nicoud R-M In Bioseparation and bioprocessing, v 1 Ed G Subramanian Wiley VCH, 1998, p 3—39
- Clavier J Y, Nicoud R M Perrut M In High pressure Chemical Engineering London Elsevier Science, 1995, p 429—434
- Mazzotti M, Storti G, Morbidelli M J Chromatogr A, 1997, v 786, p 309—320
- Depta A, Giese T, Johannsen M, Brunner G J Chromatogr A, 1999, v 865, p 175—186
- Jensen T B, Reijns T G P, Billiet H A H, van der Wielen L A M Ibid, 2000, v 873, p 149—162
- Antos D, Seidel-Morgenstern A Chem Eng Sci, 2001, v 56, p 6667—6682
- Guiochon G, Golshan-Shirazi S, Katti A M Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography Boston Academic Press, 1994
- Guiochon G J Chromatogr A, 2002, v 965, p 129—162
- Lapidus L, Pinder G F Numerical solutions of partial differential equations in science and engineering NY Wiley, 1982
- Nicoud R-M, Seidel-Morgenstern A Isolation and Purification, 1996, v 2, p 165—200
- Seidel-Morgenstern A Mathematische Modellierung der preparativen Flüssigchromatographie, Deutscher Universitätsverlag, Wiesbaden, 1995
- Soczewinski E Anal Chem, 1969, v 41, p 179—182
- Horvath C, Melander W, Molnar I J Chromatogr, 1976, v 125, p 129—139
- Snyder L R, Stadalius M A In High performance liquid chromatography — advances and perspectives Ed C Horvath V 4, NY Academic Press, 1986, p 208—316
- Wang A, Carr P W J Chromatogr A, 2002, v 965, p 2—23
- Truet Y-H, Gu T, Tsai G-J, Tsao G T Large scale gradient elution chromatography, in Advances in biochemical engineering Ed A Fiechter, Berlin Springer Verlag, 1992, v 47, p 1—44
- Myers A L AIChE Journal, 1983, v 29, p 691—693
- Antia F D, Horvath C J Chromatogr, 1989, v 483, p 63
- Yamamoto S, Suehisa T, Sano Y Chem Eng Commun, 1993, v 119, p 221—230
- Gallant S R, Kundu A, Cramer S M Biotechnol Bioeng, 1995, v 47, p 355
- Gallant S R, Yunnun S, Cramer S M J Chromatogr A, 1996, v 725, p 295
- El Fallah Z, Guiochon G Biotechnol Bioeng, 1996, v 39, p 877—855
- Spieker A, Kloppenburg, E, Gilles E D In Bioseparation and bioprocessing V 1 Ed G Subramanian, Wiley-VCH, 1998, p 329—362
- Mihlbachler K, Anspach B, Seidel-Morgenstern A Chem Ing Techn, 1998, v 70, p 382—389
- Gueorgueva L, Beltscheva D, Antos D, Seidel-Morgenstern A In Fundamentals of Adsorption 7 Ed K Kaneko, H Kanoh, Y Hanzawa IK International, Chiba-City, Japan, 2002, p 1070—1077
- Jandera P J Chromatogr A, 2002, v 965, p 239—261
- Ruthven D M, Ching C B Chem Eng Sci, 1989, v 44, p 1011—1038
- Mazzotti M, Storti G, Morbidelli M J Chromatogr A, 1997, v 769, p 3—24
- Mighorini C, Mazzotti M, Morbidelli M Ibid, 1998, v 827, p 161—174
- Mighorini C, Mazzotti M, Morbidelli M Ind Eng Chem Res, 1999, v 38, p 2400—2410
- Beltscheva D, Hugo P, Seidel-Morgenstern A J Chromatogr A, 2003 (in press)
- Ludemann-Hombourger, Nicoud R M, Bailly M Separ Sci and Technol, 2000, v 35, p 1829—1862
- Schramm H, Kasperer M, Kienle A, Seidel-Morgenstern A Chem Eng Technol, 2002, v 25, p 1151—1155
- Zang, Wankat, 2002
- Патент США № 5 422 007, 1995
- Antos D, Seidel-Morgenstern A J Chromatogr A, 2002, v 944, № 1—2, p 77—91
- Abel S, Mazzotti M, Morbidelli M Ibid, 2002, v 944, № 1—2, p 23—39
- Houwing J, Billiet H A H, van der Wielen L A M Ibid, 2002, v 944, p 189—201
- Antos D, Seidel-Morgenstern A Sep Sci Techn, 2002, v 37, p 1469—1487
- Blumel C, Hugo P, Seidel-Morgenstern A J Chromatogr A, 1999, v 865, p 51—71